Lane Medical Library

ÜBER DIE GÄHRUNG

DES

SCHLEIMSAUREN AMMONIAKS.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

EINER HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU BERN.

VORGELEGT VON

THÉRÈSE VON CISZKIEWICZ

AUS POLEN

VON DER FACULTÄT GENEHMIGT AUF ANTRAG

VON

PROF. DR. VON NENCKI.

BERN, 24. JULI 1879. DER DEKAN: PROF. LANGHANS.

RIGA, 1879.

DRUCK VON LEOPOLD WEYDE, HERDERPLATZ Nr. 5

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153505_0038

ÜBER DIE GÄHRUNG

DES

SCHLEIMSAUREN AMMONIAKS.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

EINER HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU BERN.

VORGELEGT VON

THÉRÈSE VON CISZKIEWICZ

VON DER FACULTÄT GENEHMIGT AUF ANTRAG

VON

PROF. DR. VON **NENCKI.**

BERN, 24. JULI 1879. DER DEKAN: PROF. LANGHANS.

RIGA, 1879.

DRUCK VON LEOPOLD WEYDE, HERDERPLATZ Nr. 5

Von der Censur erlaubt. Riga, 27. August 1879.

In seinem vor drei Jahren erschienenen Buche über die Gährung (Les fermentations 1876) führt Schützenberger bei der Besprechung der Buttersäuregährung, ausser den Kohlenhydraten und Milchsäure, eine Reihe organischer Substanzen an, als wie: Tartron-, Citron-, Aepfel- und Schleimsäure, welche bei der durch die geformten Fermente bewirkten Gährung, neben anderen Producten, constant Buttersäure liefern. Die Derivale der Aepfelsäure, die Fumar-, Aconit- und Asparaginsäure, das Asparagin, sollen, wenn sie als Kalksalze den Gährungsfermenten ausgesetzt werden, als Hauptproduct Bernsteinsäure liefern.

Ferner citirt daselbst Schützenberger offenbar die Angabe Redtenbacher's (Ann. Chem. phar., Bd. 57, S. 179) dass Glycerin mit viel Wasser und etwas Bierhefe versetzt, in Gährung geräth, wobei hauptsächlich Propionsäure neben wenig Essigsäure gebildet werde. Die Angabe Redtenbachers wurde von H. van Roos und Armstrong u. Brown nicht bestätigt. Nach Brown's Angaben ist es sehr wahrscheinlich, dass diese Gährung des Glycerins nicht durch Bierhefe, aber durch Bacterien hervorgerufen wurde. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft. J. 1876, S. 509).

Nach Fitz wird die Gährung des Glycerins durch zwei Bacillusarten bewirkt, wobei Glycerin bei Anwesenheit von kohlensaurem Kalk bei 40° Cels. als Hauptproducte Normalbutylalkohol und Normalbutter-

säure lieferte. Nebenbei entstehen in ganz kleiner Menge Aethylalkohol und eine höhere Säure, wahrscheinlich Capronsäure. (Ber. d Deutsch. chem. Gesellschaft. J. 1876, S. 1352).

Nach Personne soll die Citronensäure nach folgender Gleichung in Milch- und Essigsäure zerlegt werden:

$$4\ C^6H^8O^7 + 2\ H^2O = 3\ C^2H^4O^2 + 4\ C^3H^6O^3 + 6\ CO^2$$

Dagegen die Schleimsäure in Essig-, Butter- und Kohlensäure, gemäss folgender Gleichung:

$$3\ C^6H^{10}O^8 = 3\ C^2H^4O^2 + C^4H^8O^2 + 8\ CO^2 + 10\ H.$$

In den meisten Gährungsversuchen wurden die organischen Säuren, als Kalksalze, welchen noch die für die Ernährung der Pilze nöthigen Aschenbestandtheile und Stickstoff als Ammoniaksalz in geringen Mengen hinzugesetzt wurden, angewendet. Die Gegenwart des Kalkes ist nothwendig, um die Säure zu neutralisiren, da bekanntlich alle Spaltpilzgährungen nur in schwach alkalischen oder neutralen Lösungen verlaufen können. Dass aber die säurebindende Basis nicht nothwendig Kalk sein muss, beweisst z. B. die Pasteur'sche Nährlösung aus weinsaurem Ammoniak neben nöthigen Aschebestandtheilen.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob die Ammoniaksalze bestimmter organischer Säuren genau in derselben Weise, wie die Kalksalze derselben, zersetzt werden. Die Vermuthung lag nahe, dass der Ammoniak nicht allein die Rolle der säurebindenden Basis spielen wird. Es war vielmehr zu erwarten, dass bei den durch die Gährung hervorgerufenen chemischen Umlagerungen, auch das Ammonium mit in die Reaction eintreten würde, was zur Bildung bestimmter, für ammoniakalische Gährung organischer Säuren charasteristicher Producte führen würde. Es war zu erwarten, dass die Untersuchung der Gährungs-

producte der Ammonsalze organischer Säuren die in unserer Kenntniss zwischen der Gährung stickstofffreier Substanzen und der Zersetzung der Proteinsubstanzen (der Fäulniss par excellence) bestehende Lücke wenigstens zum Theil ausfüllen würde. Wie oben erwähnt, liefert nach Personne die Schleimsäure als Kalksalz angewendet, Essig-, Butter- und Kohlensäure. Die Buttersäure soll nur im späteren Stadium der Gährung und in relativ geringer Menge auftreten. Es sollte nun durch neue Experimente ermittelt werden, welche Spaltungsproducte die Schleimsäure liefern wird, wenn man sie nicht als Kalk-, sondern als Ammoniaksalz der Gährung unterwirft.

50 gr. reines neutrales schleimsaures Ammonium wurden in 2 Liter Wasser gelöst und der Lösung noch als Nährsalze: 2 gr. schwefelsaure Magnesia, 2 gr. phosphorsaures Kali, 0,2 gr. basisch phosphorsauren Kalk und 0,2 gr. Chlornatrium zugesetzt. Die Lösung wurde nun mit einigen Cub.-Ctm. fauliger Pasteur'scher Nährlösung (weinsaures Ammoniak) versetzt und in einem mit Glasplatte bedecktem Becherglase, auf einem Wasserbade bei 30—40° Cels. der Gährung überlassen. Das verdunstende Wasser wurde von Zeit zu Zeit erneuert. Nach vier Tagen hat sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine dicke Haut gebildet, welche aus lebhaft sich bewegenden Stäbchenbacterien bestand. Die Flüssigkeit wurde stark trübe. Seither konnte man ununterbrochen Vermehrung der Spaltpilze in der Flüssigkeit und namentlich an deren Oberfläche beobachten. Die Mikroorganismen waren hier vorwiegend durch kurze 3—4 Mikrometer lange Stäbchen repräsentirt. Doch waren daneben auch Fadenbacterien (Bacillen) vorhanden.

Nach drei Wochen hatte die stark getrübte, neutral reagirende Flüssigkeit einen eigenthümlichen,

gleichzeitig an Indol und Pyrrol erinnernden Geruch angenommen, der jedoch allmälig schwächer wurde und fünf Tage später gänzlich verschwand.

Während der ganzen Dauer der Gährung wurde keine Gasentwickelung bemerkt.

Nach 40tägiger Dauer wurde die Gährung unterbrochen und die Flüssigkeit auf folgende Weise untersucht:

Die von den ungelösten Nährsalzen und Bacterien abfiltrirte Flüssigkeit wurde mit 20 Cub.-Ctm. concentrirter Schwefelsäure versetzt und um die entstandenen Fettsäuren mit den Wasserdämpfen zu verflüchtigen, destillirt. Da jedoch, das übergehende Destillat neutrale Reaction zeigte, so wurde das Erhitzen nur so lange fortgesetzt, bis die Hälfte der Flüssigkeit überdesstillirte. Das klare, neutral reagirende Destillat erinnert an den während der Gährung entstandenen Geruch. Es wird mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt. Nach Verdunsten der ätherischen Lösung hinterbleiben einige dunkle Tropfen, welche mit wenig Wasser versetzt, sich darin nicht lösen und auch nicht krystallinisch erstarren. An der Luft färbt sich die Flüssigkeit violettroth. Das Oel, welches dem Pyrrol ähnlich riecht, zeigt auch die Reactionen desselben. Mit mehr Wasser geschüttelt, löst es sich zum Theil darin auf. Die wässerige Lösung färbt einen mit Chlorwasserstoff befeuchteten Fichtenspan sofort intensiv roth; ein Tropfen rauchender Salpetersäure ruft in derselben eine dunkelbraune Färbung hervor, woraus sich beim Stehen nach einiger Zeit eine braune, amorphe Substanz absetzt. Obgleich alle diese Reactionen für die Anwesenheit von Pyrrol sprechen, so muss man es doch unentschieden lassen, ob die Substanz wirklich Pyrrol war, weil für eine Analyse die erhaltene Menge zu gering war.

Die mit Aether ausgeschüttelte wässerige Lösung hinterliess, bei gelinder Wärme verdunstet, nur minimale Menge einer gelblichen, amorphen Masse.

Der Retortenrückstand wurde nun auf folgende Weise untersucht: Um die zugesetzte Schwefelsäure zu entfernen, wurde die Flüssigkeit mit Barytwasser ausgefällt und aus dem Filtrate das überschüssige Baryum durch Kohlensäure entfernt. Das Filtrat vom kohlensauren Baryum hinterlässt, auf dem Wasserbade stark eingeengt, in minimaler Menge einen braunen körnigen Rückstand, welcher aus mikroskopischen, strahlig angeordneten Nadeln besteht. Die Krystalle verbrennen auf dem Platinblech. An eine weitere Untersuchung derselben war bei der minimen Menge derselben nicht zu denken. Die von diesen organischen Krystallen abfiltrirte Lauge enthielt in geringer Menge nur unorganische Materien. In der Vermuthung, dass vielleicht beim Neutralisiren der schwefelsauren Lösung mit Borytwasser, die unveränderte Schleimsäure als Baryumsalz mit ausgefüllt werden könnte, wurde der Niederschlag von schwefelsaurem Baryum mit Salzsäure behandelt; es gelang jedoch nicht, aus der salzsauren Lösung irgend eine organische Substanz in nennbarer Menge zu isoliren.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich demnach, dass die 50 gr. des schleimsauren Ammoniaks, an der Luft bei 40° Cels. digerirt, durch Spaltpilze nach 40tägiger Gährung fast vollkommen zu kohlensaurem Ammoniak verbrannt wurden.

Wesentlich andere Resultate wurden erhalten, als schleimsaures Ammonium bei gewöhnlicher Temperatur (15—20° Cels.) in Gährung versetzt wurde. 250 gr. schleimsaures Ammonium; 5 gr. saures phosphorsaures Kali; 2,5 gr. Chlorcalcium; 2,5 gr. schwefelsaure Magnesia und 2,5 gr. Chlornatrium wurden

heiss in 7 Liter Wasser gelösst, die filtrirte Lösung mit 3 Cub.-Ctm. bacterienhaltiger Flüssigkeit von dem vorigen Versuche als Ferment zugesetzt und in flachen Glasgefässen mit Glasplatten zugedeckt, bei gewöhnlicher Temperatur der Gährung überlassen.

Nach 3 Tagen hat sich an der Oberfläche eine aus Bacterien bestehende Haut entwickelt. Vier Tage später wurde sie abgehoben, worauf sie aber von Neuem entstand. Nun entwickelten sich hier die Bacterien nicht nur an der Oberfläche, sondern die ganze Flüssigkeit wurde von ihnen durchsetzt Gasentwickelung wurde während des ganzen Gährungsprocesses nicht bemerkt.

Nach 25 Tagen ist die ganze Flüssigkeit schleimig und fadenziehend geworden. Die in der schleimigen Masse vorhandenen Organismen sind ganz homogen aus kurzen 3—4 Mikrometer langen und 0,5—0,6 Mikrometer dicken Stäbchen bestehend. Die Stäbchen sind beweglich, meist einzeln, doch auch in 2—5 gliedrigen Ketten. Da es beobachtet wurde, dass die schleimige Masse zum Sieden erhitzt und mit Salz- oder Essigsäure versetzt, einen amorphen, flockigen dem coagulirten Eiweiss ähnlichen Niederschlag gab, so wurde die ganze Flüssigkeit zunächst mit dem halben Volumen Wasser verdünnt, sodann zum Sieden erhitzt und mit starkem Ueberschuss ebenfalls siedender 20procentiger Essigsäure versetzt. Es entwich dabei Kohlensäure. Die angesäuerte Flüssigkeit wurde so lange gekocht, bis sich ein flockiger Niederschlag deutlich abzuscheiden begann. Man liess sie hierauf etwa 30 Stunden lang bei gewöhnlicher Temperatur stehen, bis sich der flockige Niederschlag am Boden des Gefässes absetzte und die Flüssigkeit sich gut dekantiren liess. Der Bodensatz ergiebt sich, microskopisch bei starker Vergrösserung untersucht, als aus

einzelnen Partikeln einer amorphen Masse bestehend, in welcher die gleichen Bacterien von 3—4 Mikrometer Länge einzeln eingebettet liegen. Die Bacterien haben vollkommen ihre Form noch erhalten und werden durch Methylviolett schön roth gefärbt. Dieser Bacterienniederschlag wird auf ein Filter gebracht, mit Wasser ausgewaschen und auf Fliesspapier, sodann im Luftbade bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet, behufs späterer Analyse.

Unterdessen wurde die Untersuchung der von dem Bacterienniederschlage abgegossenen Flüssigkeit unternommen, indem man sie filtrirte und auf dem Wasserbade verdunstet. Es scheiden sich hierbei schwarze humusartige Massen ab, von denen die Lösung durch wiederholte Filtration befreit wird. Erst als die Flüssigkeit bis auf etwa 200 Cub.-Ctm. concentrirt worden, schieden sich in der Kälte Krystalle aus, welche aus mikroskopischen, zugespitzten Säulen bestanden. Genauere Untersuchungen zeigten, dass die Substanz unveränderte Schleimsäure war. Durch Vergleich der Krystallformen mit einer frischbereiteten Schleimsäure, Verwandelung der Krystalle in das Ammoniumsalz, Verhalten beim Erhitzen, wurde die Identität dieser Krystalle mit der Schleimsäure erwiesen. Aus der von den geringen Mengen (ca. 0,5 gr.) aus krystallisirter Schleimsäure abfiltrirten Mutterlauge, wurde bei weiterem Eindampfen noch ein wenig Schleimsäure und unorganische Salze, sonst keine anderen Producte gewonnen. Bei weitem die Hauptmenge der Gährungsproducte bildete die amorphe, die Bacterien umhüllende, schleimige Masse, welche nun auf folgende Weise untersucht wurde. Die ausgewaschene und im Luftschrank getrocknete Substanz, wurde fein gepulvert und mit Aether extrahirt. Der ätherische Aufzug zeigt alle Reactionen des gewöhn-

lichen Fettes, jedoch war demselben in minimaler Menge Pyrrol, kenntlich durch seine Reactionen mit Salz- und Salpetersäure beigemengt. Die Menge des ätherischen Extractes betrug in einem Falle 7,1 und im zweiten 6,63 % von dem Gewicht der bei 110° getrockneten Substanz.

Die entfettete Substanz verbrannte auf dem Platinblech unter Verbreitung des Geruches nach verbranntem Horn. Mit Millon'schene Reagens, gekocht färbte sie sich roth.

In verdünnter Natronlauge löste sie sich beim gelinden Erwärmen leicht auf. Essigsäure erzeugt in der Lösung einen Niederschlag, welcher sich auch in der Wärme nicht mehr löst. Auch die Salzsäure fällt aus alkalischer Lösung die Substanz aus: der entstandene Niederschlag aber wird fast vollständig durch überschüssige Salzsäure gelöst. In der Kälte wird durch verdünnte fixe Alkalien oder durch deren Carbonate nur wenig von der Substanz gelöst. Ueberschüssige Essigsäure bringt in der gelben alkalischen Lösung keinen Niederschlag hervor.

Beim Erwärmen mit 20procentiger Salzsäure wird eine dunkle braune Lösung erhalten, wobei nur ein geringer Rückstand, aus schwarzen, amorphen Flocken bestehend, hinterbleibt. In der salzsauren Lösung wird durch Alkohol kein Niederschlag erzeugt.

In kalter, concentrirter Schwefelsäure quillt die Substanz anfangs und löst sich allmälig vollständig auf.

Die Analysen dieser Substanz ergaben folgende Resultate:

0,5154 trockener Substanz ergaben . 0,0111 Asche:
entsprechend 0,21 % „

0,2998 gr. Substanz gaben . . . . 0,5795 CO_2
entsprechend 52,72 % C.
„ „ „ „ und 0,2066 H_2O
entsprechend 7,65 % H.
0,2413 gr. Substanz ergaben . . . 0,465 CO_2
entsprechend 52,55 % C.
„ „ „ „ und 0,1643 H_2O
entsprechend 7,56 % H.
Auf aschefreie Substanz berechnet . 52,69 % C.
„ „ „ „ und 7,58 % H.

1. Stickstoffbestimmung.

0,2292 Substanz ergaben . . . 29,0 Cub.-Ctm. N.
(bei 15,5° Temp. und 705 Barometerstand)
entsprechend 13,70 % N.
Auf aschefreie Substanz berechnet 13,73 % N.

2. Stickstoffbestimmung.

0,2053 gr. Substanz ergaben . . 24,8 Cub.-Ctm. N.
(bei 15° Temp. und 714,5 Barometerstand)
entsprechend 13,37 % N.
Aschefrei . . . . . 13,39 % N.
0,6491 gr. Substanz ergaben . . 0,0328 S. BaO_4
entsprechend 0,69 % S.
Der aschefreien Substanz . . . 0,6915 % S.

Aus dem Mitgetheilten geht hervor, dass hier eine eigenthümliche, bisher unbekannte Art der Gährung vorliegt, die man noch am besten mit der schleimigen Gährung des Zuckers vergleichen könnte.

Ebenso wie bei 40° konnten aus schleimsaurem Ammonium durch Gährung bei gewöhnlicher Temperatur ausser Kohlensäure und Ammoniak keine gut characterisirbaren Spaltungsproducte in irgend welcher nennbaren Menge erhalten werden. Dagegen war die Vermehrung der Spaltpilze eine ausserordentlich grosse, und diesem Umstande ist es jedenfalls zuzuschreiben, dass die ganze Flüssigkeit in eine schleimige, faden-

ziehende Masse verwandelt worden ist. Wie die mikroskopische Besichtigung dieser Masse namentlich aber dessen mit der Essigsäure erhaltenen flockigen Niederschlages zeigte, ist dieser Schleim, in welchem die Bacterien eingebettet lagen, als ein Bestandtheil der Spaltpilze selbst aufzufassen. Nach der Analogie des Pflanzenschleimes könnte man annehmen, dass auch hier die die Bacterien umgebenden schleimigen Massen nichts anderes als ihre aufgequollene Zellmembran ist. Durch Erhitzen mit Säuren scheint dieser Schleim zu schrumpfen, wodurch die Bacterien in compactere Flocken zusammenfallen und sich durch die Filtration von ihrer Nährlösung trennen lassen. Durch die Einwirkung der Säure, Auswaschen mit Wasser, und Behandeln des trockenen Rückstandes mit Aether, wurden den Bacterien die unorganischen Salze, Extractivstoffe und das Fett entzogen. Die Elementaranalyse des Rückstandes dürfte demnach als die elementare Zusammensetzung der Bacterien selbst d. h. ihres Eiweisses. Zellmembran + Spaltpilzschleim betrachtet werden.

In der Absicht nun, sowohl den Spaltpilzschleim, als auch die Bacterien in grösserer Menge zu erhalten, um so ihre Zusammensetzung genauer kennen zu lernen, wurde der Versuch von Neuem wiederholt. Es wurden 80 gr. schleimsaures Ammonium, 1,7 gr. saures phosphorsaures Kali, 0,8 gr. Chlorcalcium, 0,8 gr. schwefelsaure Magnesia, 0,8 gr. Chlornatrium mit 3 Liter destillirten Wassers übergossen, mit Bacterien aus einer faulenden Leimlösung versetzt und in flachen Gefässen bei Zimmertemperatur aufgestellt. Leider ist hier diese eigenthümliche schleimige Gährung nicht eingetreten. Die Nährlösung bedeckte sich mit einer Bacterienhaut, aber ähnlich wie bei dem Versuche bei 40° Cels. lebten die Spaltpilze vorwiegend auf der

Oberfläche der Flüssigkeit. Als nach Verlauf von 14 Tagen keine Schleimbildung zu bemerken war, wurde die Flüssigkeit in einen Kolben gebracht und bei 40° der Gährung überlassen. Dabei wurde schwache Gasentwickelung bemerkt. Das entweichende Gas enthielt aber keinen Wasserstoff, sondern nur Kohlensäure. Nach weiteren 14 Tagen, da auch jetzt keine Schleimbildung eingetreten ist, wurde die Gährung unterbrochen, die Flüssigkeit in eine tubulirte Retorte gebracht, mit 50. gr. concentrirter Schwefelsäure versetzt und destillirt. Das erhaltene Destillat 13015 Cub.-Ctm. reagirte sauer, und zwar brauchten 100 Cub.-Ctm. davon, 17 Cub.-Ctm. titrirter Borytlösung, welche 0,349 gr. Baryum enthielten. Das Destillat wurde nun mit Natronlauge neutralisirt und zum Trockenen eingedampft. Das hinterbliebene Natronsalz mit Schwefelsäure zersetzt, lieferte eine flüchtige Fettsäure, die den Geruch und die Löslichkeit der Buttersäure hatte. Die abgeschiedene Säure wurde durch Destillation gereinigt und in das Silbersalz übergeführt. 0,1283 gr. des Silbersalzes enthielten 0,070 gr. Silber, oder 54,6 % Silber. Buttersaures Silber verlangt 54,4 % Silber. Es ergiebt sich hieraus, dass die flüchtige Fettsäure fast ausschliesslich aus Buttersäure bestand. Wird der Säuregrad auf sie bezogen, so wurden im Ganzen etwa 6,0 gr. Buttersäure erhalten. Aus diesem Versuche geht nun hervor, dass ähnlich wie schon Personne für den schleimsauren Kalk fand, auch das schleimsaure Ammonium Buttersäure, jedoch nur in einem späteren Stadium der Gährung und in relativ geringer Menge liefert.

Erneuerte Versuche, die schleimige Gährung durch Infection mit einigen Tropfen Pancreassaft in einer genau wie im Versuche 2 zusammengesetzten Lösung hervorzurufen, fielen negativ aus.

Schliesslich ist noch zu erwähnen, dass mit weinsaurem und zuckersaurem Ammonium auch Gährungsversuche bei 40^0 Cels. angestellt wurden. Die aus dem zuckersauren Salze erhaltenen Producte waren durchaus die gleichen wie aus dem schleimsauren Ammonium im ersten Versuche. Nur war die Menge des gebildeten Pyrrols noch grösser. Aus weinsaurem Ammonium wurde nach 33 Tagen nur kohlensaures Ammonium erhalten.

Diese Untersuchung wurde im Laboratorium des Professors Nencki ausgeführt.